LENDER, Th. 1954*a*. *Sur la régénération des yeux de la planaire Polycelis nigra en présence de broyats de la région antérieure du corps*. C.R. Ac. Sc., 238: 1742-1744.

— 1954*b*. *Sur l'activité inductrice de la région antérieure du corps dans la régénération des yeux de la planaire Polycelis nigra. Activité de broyats frais ou traités à la chaleur*. C.R. Soc. Biol. 148: 1859-1861.

SANTOS, F. V. 1929. *Studies on transplantation in Planaria*. Biol. Bull. Woods Hole. 57: 188-198.

— 1931. *Studies on transplantation in Planaria dorotocephala and Planaria maculata*. Phys. Zool. 4: 111-164.

TOIVONEN, S. 1940. *Über die Leistungsspezifität der abnormen Induktoren im Implantatversuch bei Triton*. Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A., 55 nº 6,: 1-150.

WOLFF, Et. 1953. *Les phénomènes d'induction dans la régénération des planaires d'eau douce*. Rev. Suisse Zool. 60: 540-546.

— et Th. LENDER. 1950. *Sur le rôle organisateur du cerveau dans la régénération des yeux chez une planaire d'eau douce*. C.R. Acad. Sc., 230: 2238-2239.

Nº 15. **Silvio Ranzi** et **Paolo Citterio,** Milano. — Le comportement des différentes fractions protéiques au cours du développement embryonnaire de *Rana esculenta*. (Avec 2 figures dans le texte.)

Laboratoire de Zoologie et Anatomie comparée de l'Université de Milan.

Dans le but d'approfondir la chimie de la différenciation pendant le développement embryonnaire et post-embryonnaire de *Rana esculenta* L., nous avons entrepris une série de recherches sur les changements et les propriétés des différentes fractions protéiques.

Nous avons extrait des œufs et des embryons lyophilisés dans du liquide de Weber et Edsall. Les œufs avaient été pondus d'une manière spontanée dans le laboratoire par des animaux qui avaient été pris dans des rizières des environs de Milan. Nous avons fractionné l'extrait en ajoutant une solution saturée de sulphate

d'ammonium; nous avons également construit des courbes de relargage selon DERRIEN [3].

Ces recherches [6] ont montré que la segmentation de l'œuf correspond à une diminution de la solubilité des protéines de la poudre lyophilisée; au fur et à mesure que la segmentation a lieu, ces protéines sont extraites en quantité moindre, et celles qui passent dans la solution sont précipitées par une concentration plus faible de sulphate d'ammonium. A partir du stade de plaque neurale, on observe, au contraire, un processus de différenciation protéique au cours duquel les fractions qui précipitent à différentes concentrations de sulphate d'ammonium sont toujours mieux individualisées.

Afin de procéder à l'identification des différentes fractions protéiques, nous avons employé soit des réactions colorées (Dische pour l'acide thymonucléique; réaction à l'orcinol pour l'acide ribonucléique; réaction à la benzidine), soit des réactions sérologiques.

Pour ces dernières, nous avons préparé les antigènes suivants: *a)* myosine soluble de Szent-Györgyi préparée suivant la méthode décrite dans [1] avec les muscles des pattes postérieures de la grenouille; *b)* actine préparée selon la méthode décrite dans [1] avec les mêmes muscles des pattes postérieures; *c)* plasme sanguin de grenouille obtenu par l'addition à dix parties de sang d'une partie de 2% d'oxalate de sodium et par une centrifugation successive dans le but d'isoler les globules; *d)* globules rouges de grenouille en solution physiologique.

Pour chaque antigène, on a employé trois lapins qui ont été traités de la manière suivante: injection endopéritonéale préparatoire de 4 mg. de protéine antigène (déterminés comme N total). Deux semaines d'injections intraveineuses tous les deux jours, pour un total de 21 mg. de protéine. Deux semaines de repos. Une injection endopéritonéale de 4 mg. de protéine. Encore deux semaines d'injections intraveineuses tous les deux jours, pour un total de 60 mg. de protéine. Quatre jours de repos. Saignée complète. Les sérums filtrés sur filtre Seitz sont conservés à —25° C. sans addition d'aucune substance.

On a exécuté la réaction des précipitines par la méthode suivante: 0,25 cc d'antisérum ont été mis en contact, dans un petit tube d'essai, avec 0,25 cc d'antigène opportunément dilué.

Au stade 12 des tables reportées par Rugh [7] (bouchon vitellin), il est possible d'observer dans l'extrait en liquide de Weber et Edsall (fig. 1) une fraction qui précipite, à 0°, entre 30 et 70% de saturation de sulphate d'ammonium. Cette fraction donne la réaction des précipitines avec les sérums antimyosine de Szent-

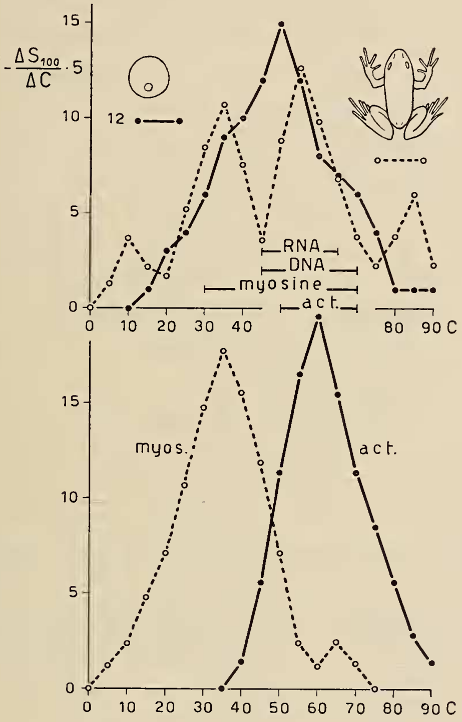

Fig. 1.

En haut courbes de relargage du stade 12 et de la grenouille adulte. En bas courbes de relargage de la myosine (*myos.*) et de l'actine (*act.*). Les segments horizontaux représentent: RNA la fraction qui donne la réaction de l'orcinol; DNA la fraction qui donne la réaction de Dische; *myosine* et *act.* les fractions qui donnent les réactions sérologiques de la myosine et de l'actine.

Györgyi. Il faut noter que, à ce stade, le mésoderme est encore en train d'aller à sa place et les somites ne sont donc pas individualisés. Cela ne surprend pas si l'on tient compte que, dans l'embryon de poulet déjà au stade de jeune ligne primitive, on a pu mettre la myosine cardiaque en évidence par la méthode sérologique [4]; ce stade du poulet n'est certainement pas, en ce qui concerne la

différenciation du mésoderme, plus avancé que le stade 12 de la grenouille.

Une fraction qui précipite entre 50 et 70% de saturation et qui donne une réaction positive avec le sérum antiactine est toujours présente dans le stade 12. La myosine et l'actine se retrouvent dans tous les stades successifs et existent, avec les mêmes propriétés de précipitation, dans la grenouille adulte, dans laquelle l'actine précipite aussi à 75% de saturation. Dans les courbes de l'antigène employé, construites selon Derrien, on voit que la courbe de l'actine présente son pic justement entre 50 et 70% de saturation de sulphate d'ammonium, et que la réaction au stade 12 est justement dans la fraction que l'on pouvait prévoir d'après la courbe de relargage. Pour la myosine, au contraire, le pic de la courbe de relargage est entre 30 et 40% de saturation [1], ce qui correspond à la partie de la fraction avec réaction immunologique de myosine qui précipite à la concentration la plus basse de sulphate d'ammonium.

Au stade 12, la réaction de Dische pour l'acide thymonucléique peut être observée dans la fraction qui précipite entre 45 et 70% de saturation avec sulphate d'ammonium, cette fraction étant la seule qui montre, au spectrophotomètre de Beckman, une bande d'absorption à 260 m μ. La réaction à l'orcinol pour l'acide ribonucléique ne peut être observée que dans la fraction qui précipite entre 45 et 65% de saturation. Il n'y a pas de réaction de la benzidine.

Au stade 19 de Rugh (le cœur bat) (fig. 2), on voit une fraction qui précipite entre 30 et 85% de saturation, et qui donne la réaction immunologique du plasme sanguin. Il y a aussi une fraction qui précipite entre 30 et 85% de saturation et qui donne une précipitation avec le sérum antiglobules. Ces fractions, cependant, ne réagissent que dans de l'extrait non délipidé; tandis qu'elles ne donnent plus de réaction lorsque l'extrait a été délipidé par l'éther éthylique. Etant donné que nous avons seulement eu la possibilité d'examiner le stade 10 non délipidé, sans obtenir aucune réaction

[1] La courbe de relargage de la myosine a son pic à 35% de saturation avec une valeur à 40% très élevée. Cela correspond bien au pic de 37,5% observé par Tenow et Snellman (9) pour la myosine de lapin. La courbe de ces auteurs est plus étroite que la nôtre. Cela n'est probablement pas tellement dû à la différence d'espèce qu'à la plus grande pureté de leur préparation qui était myosine plusieurs fois cristallisée. Dans notre préparation, la fraction qui ne peut précipiter qu'à une concentration élevée de sulphate d'ammonium représente vraisemblablement une impureté.

immunologique positive, nous pensons qu'il soit possible de trouver également ces antigènes dans quelques stades entre les stades 12 et 19 [1]. Cette supposition est basée sur les conditions de l'appareil circulatoire et sur le fait qu'il est possible d'identifier dans l'œuf aussi des protéines sériques au moyen d'une autre méthode immunologique [2].

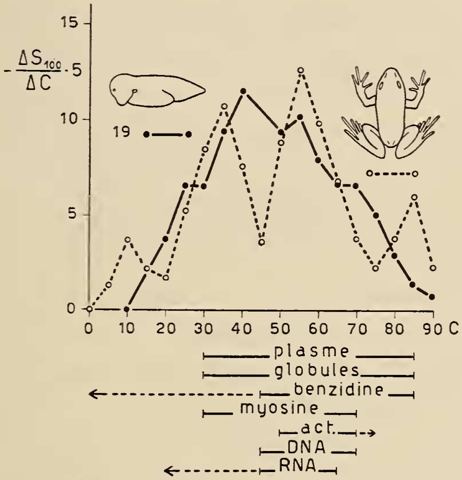

Fig. 2.

Courbes de relargage du stade 19 et de la grenouille adulte. Les segments horizontaux représentent au stade 19 les fractions qui donnent la réaction de l'orcinol (RNA), de Dische (DNA), de la benzidine et les réactions sérologiques du plasme, des globules, de la myosine et de l'actine (act.). Les flèches indiquent que l'extension de la réaction est plus grande dans la grenouille adulte.

La réaction de la benzidine est positive au stade 19 dans la fraction qui précipite entre 45 et 85% de saturation, tandis que, dans la grenouille adulte, toutes les fractions que l'on peut précipiter avec du sulphate d'ammonium jusqu'à une concentration de 85% de saturation présentent cette réaction. L'ébauche du sang la présente cependant déjà dans un stade un peu plus jeune que le stade 19 [8].

[1] Au moment de la correction des épreuves, nous pouvons préciser qu'au stade 15 de Rugh (bourrelets mcdullaires jontifs mais non soudés) : la fraction qui précipite entre 50 et 75% donne la réaction immunologique du plasme sanguin et une précipitation avec le sérum antiglobules; la fraction qui précipite entre 45 et 75% donne la réaction de la benzidine. On n'observe pas de telles réactions au stade 14 de Rugh.

Par la méthode viscosimétrique employée par nous pour reconnaître la forme des particules protéiques en solution [5], nous avons essayé de voir la forme des particules en solution dans les différentes fractions; nous avons généralement fractionné les différents stades du développement en prenant cinq fractions dont quatre correspondaient aux pics de la courbe de relargage de la grenouille adulte (0-25%; 25-45%; 45-70%; 70-85% de saturation) et la cinquième aux protéines qui restent en solution à 85% de saturation de sulphate d'ammonium. Les quatre fractions qui précipitent entre 0 et 85% de saturation contiennent des particules filamenteuses ou des particules filamenteuses repliées; seule la fraction qui reste en solution à 85% a des particules globulaires. Il faut cependant remarquer que, dans des essais d'orientation faits sur du foie de lapin, on peut voir les quatre pics principaux de relargage de la grenouille séparés à 20, 45, 80%, et que la fraction là-aussi la plus abondante (précipitée entre 45 et 80%) donne la réaction de particules globulaires (c'est-à-dire que les particules globulaires y sont prédominantes). Cette prédominance des particules globulaires dans la fraction extraite du foie isolé peut être mise en rapport avec le fait qu'il n'y a pas dans le foie de myosine et d'actine, qui sont au contraire présentes dans la grenouille entière.

Un dernier point doit être considéré. A partir de la gastrulation, les mêmes antigènes sont doués des mêmes propriétés de précipitation, c'est-à-dire qu'ils semblent identiques. Ce phénomène est en accord avec les recherches de Ebert [4] pour la myosine cardiaque de l'embryon de poulet. Ce n'est que l'acide ribonucléique et la réaction de la benzidine qui, chez l'adulte, apparaissent aussi dans des fractions plus facilement précipitées que dans le stade 20, également étudié par nous. Le comportement de la réaction de l'acide ribonucléique doit peut-être être mis en rapport avec la synthèse de nouvelles ribonucléoprotéines pendant la différenciation chimique.

Ces recherches ont été réalisées avec l'aide du « Consiglio Nazionale delle Ricerche ». Nous avons aussi employé des appareils donnés par la Rockfeller Foundation ou achetés avec des fonds ERP. Nous remercions le professeur F.-E. Lehmann pour son invitation à parler des résultats de ces recherches à la réunion de Berne.

AUTEURS CITÉS

1. Cigada, M., P. Citterio, A. Orlandi, S. Ranzi e L. Tosi. 1949. Ist. Lombardo (Rend. Sc.) 82: 351.
2. Cooper, R., S., J., exp. Zool. 101: 143, 1946; 107: 397, 1948; 114: 403, 1950.
3. Derrien, Y., E. P. Steyn-Parvé, M. Cotte and G. Laurent. 1952. Biochim. Biophys. Acta 9: 49.
4. Ebert, J. D. 1952. Proc. Nat. Ac. Sc., Washington 39: 333.
5. Ranzi, S. e P. Citterio. 1954. Boll. Soc. It. Biol. sper. 30: 517.
6. — Exp. Cell Res. (sous presse).
7. Rugh, R. 1952. *Experimental Embryology*. Burgess Company Minneapolis Min.
8. Spirito, A. 1937. Arch. Sc. Biol. 23:185.
9. Tenow, M. and O. Snellman. 1954. Bioch. Biophys. Acta 15: 395.

No 16. **P. A. Tschumi,** Versuche über die Wachstumsweise von Hinterbeinknospen von *Xenopus laevis Daud.* und die Bedeutung der Epidermis.*

(Mit 4 Textabbildungen.)

(Dept. of Anatomy, University, Cambridge.)

I. Einführung.

Obwohl die Extremitätenentwicklung schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war, ist dem Wachstum der Knospe bisher wenig Beachtung geschenkt worden. Eingehend untersucht wurde nur die Entwicklung der Flügelknospen bei Hühnchen durch Saunders (1948):

* Vorläufige Mitteilung. Eine ausführlichere und erweiterte Arbeit mit genaueren Angaben über Material und Methode und Diskussion der Literatur wird später anderswo publiziert. Die Durchführung dieser Arbeit wurde durch die « Nuffield Foundation » und den Schweizerischen Nationalfonds ermöglicht.